Experimentelle Untersuchungen am Menschen über die Steigerung der percutanen Resorption von Monophenylbutazon durch kapillarerweiternde Substanzen

Friedrich Struppler

München
1967

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität
München
Direktor : Professor Dr. W. Seitz

Experimentelle Untersuchungen am Menschen über die Steigerung der percutanen Resorption von Monophenylbutazon durch kapillarerweiternde Substanzen.

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Friedrich Struppler

aus
München

1967
München

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter : Priv.-Doz. Dr. H. Mathies

Mitberichterstatter : Prof. Dr. W. Seitz

Dekan : Prof. Dr. F. Holle

Tag der mündlichen Prüfung : 14.XI.67

Fotodruck: Mikrokopie GmbH, 8 München 22, Bruderstraße 9

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	4
Problematik	6
Eigene Untersuchungen	
Methodik	11
Ergebnisse	17
Abbildungen	24
Diskussion	28
Zusammenfassung	34
Literaturverzeichnis	36

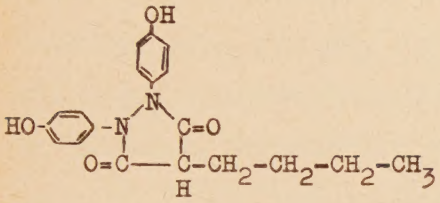
E i n l e i t u n g

Die Kenntnisse über die pharmakologischen und therapeutischen Eigenschaften der Pyrazole reichen bis in das vergangene Jahrhundert zurück. Zunächst interessierten die Pharmakologen das Phenazon und das Dimethylaminoantipyrin (Dipyrin). Besonders E p p i n g e r (5) deckte die entzündungshemmenden Qualitäten des Dipyrin im Tierversuch auf. Auf der Suche nach weiteren Präparaten in der Pyrazolreihe synthetisierte 1946 S t e n z l (19) durch Hydrierung des Pyrazolinringes die Pyrazolidine, unter anderem auch das 1,2 - diphenyl - 3,5 - dioxo - 4 n - butylpyrazolidin (Diphenylbutazon).

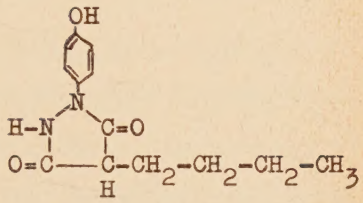
Phenazon und Dipyrin zeigen basische Eigenschaften, während durch die Einführung einer zweiten Carbonylgruppe das Diphenylbutazon sauren Charakter bekommt. Wegen der Atomgruppierung - CO - CH - CO - bildet es mit anorganischen und organischen Basen wasserlösliche Salze, in denen das Diphenylbutazon in der Enolatform vorliegt.

Die gleichen chemischen Eigenschaften zeigt auch der Pyrazolidinmetabolit 1 - phenyl - 3,5 - dioxo - 4 n - butylpyrazolidin, das in der Literatur als " Monophenylbutazon " bezeichnet wird.

Formeln :



Diphenylbutazon



Monophenylbutazon

Läßt man starke Basen auf das Monophenylbutazon einwirken, so bilden sich stabile wässrige Lösungen, die einen fast neutralen pH - Wert besitzen. In Wasser selbst ist es fast unlöslich, dagegen löst es sich in Chloroform, Azeton und in heißem Acetylalkohol. Als Trockensubstanz liegt das Monophenylbutazon in Form eines weißen kristallinen Pulvers vor. Sein Molekulargewicht beträgt 232 (308,4 bei Diphenylbutazon) und der Schmelzpunkt ist bei 103° C (104,5° C bei Diphenylbutazon). Tierversuche von S c a r s e l l i (18) zeigten einen Unterschied in der akuten Toxizität. Bei einer intraperitonealen Applikation von Monophenylbutazon bei 20 g schweren Mäusen ergab sich eine DL_{50} von 937 mg/kg, bei 120 g schweren Ratten eine DL_{50} von 848 mg/kg. Dagegen liegt die DL_{50} des Diphenylbutazon bei der Maus bei 172 mg/kg und bei der Ratte bei 142 mg/kg. Danach besitzt das Diphenylbutazon eine eindeutig größere akute Toxizität als das Monophenylbutazon.

P r o b l e m a t i k

In der vorliegenden Arbeit soll die perkutane Resorption von Monophenylbutazon durch Nachweis der antiphlogistischen Wirkung der in die Blutbahn gelangten Wirksubstanz untersucht werden.

Zum Nachweis der entzündungshemmenden Wirkung kann ein nach D o m e n j o z (4) " sehr vereinfachtes Entzündungsmodell " dienen, das ein künstlich durch Dextran, Formalin, oder andere Stoffe gesetztes Ödem darstellt. Bei einem regelrechten Entzündungsablauf wirken neben vielfältigen Faktoren das Ferment Hyaluronidase und weitere unspezifische " Spreading - Faktoren " mit, Enzyme vom Typ der gewebseigenen Proteasen und niedermolekularen Verbindungen. So kann auch die Hemmung eines durch Hyaluronidase induzierten Rattenpfoten - Ödems als Modell für einen Teileffekt der antiphlogistischen Wirkung herangezogen werden.

Diese Hyaluronidase ist ein noch nicht genau definierter Fermentkomplex, der die Hyaluronsäure angreift, den wichtigsten Bestandteil des Bindegewebes. Nach K a r l s o n (7) wird die Hyaluronsäure aus Glukuronsäure und N - Acetyl - Glucosamin aufgebaut, bildet lange, unverzweigte Ketten und besitzt ein hohes Molekulargewicht. Die Hyaluronidase depolymerisiert die Hyaluronsäure, wodurch z.B. die Viskosität

einer Versuchslösung in vitro rasch abnimmt. Weiter werden die aufgespaltenen Ketten in kleine geradzahlige Polysaccharide zerlegt. In vivo erhöht die Aufspaltung der Säure die Durchlässigkeit des Gewebes, Flüssigkeit tritt aus, und es bildet sich ein Ödem.

Die Entwicklung eines solchen Ödems wird durch die Pyrazolidinderivate verlangsamt. Dabei wirken die meisten antirheumatischen Pharmaka in gleicher Weise : sie hemmen die Aktivität der Hyaluronidase. Dieses geschieht nicht durch direkten Angriff am Fermentkomplex, sondern über eine Katecholaminausschüttung, wie M a t h i e s (9, 10, 14) in tierexperimentellen und klinischen Studien feststellte. Zusätzlich scheinen noch Histamin und Heparin in die Reaktion einzugreifen.

Zur experimentellen Erprobung der entzündungshemmenden Antirheumatica wurden verschiedene Versuchsanordnungen entwickelt.

D o m e n j o z (4) benützte zur Testung das bereits erwähnte Rattenpfötchenödem. Der positive Effekt eines Pharmakons äußert sich dabei in der verminderten Volumenzunahme der " entzündeten " Rattenpfote.

Um genauere Ergebnisse zu erhalten, spritzte L o t m a r (8) Kaninchen intravenös radioaktivmarkierte Natriumsulfationen ins Ohr. Die Wirkung eines

Substrates las sie an dem mehr oder weniger verminderten Austritt der Ionen durch die durch Auftragen entsprechender Stoffe künstlich " entzündete " Bauchhaut ab.

M a t h i e s konnte aber zu denselben Ergebnissen wie L o t m a r kommen, obwohl er eine sehr einfach anzuwendende Methode entwickelte. Sie erlaubt auch ohne Bedenken Versuche am Menschen. Er benützt dazu den Farbstoff - Hyaluronidase Quaddeltest. Bei diesem verringert eine hyaluronidasehemmende Substanz die Ausbreitung einer intracutan gesetzten Hyaluronidasequaddel, die durch Farbstoff sichtbar gemacht worden ist.

Mit dieser Versuchsanordnung sicherten M a t h i e s und Mitarbeiter (9 - 15) die hyaluronidasehemmende Wirkung von Salicylsäure, Cortisonderivaten, Huminsäure und auch die von Diphenylbutazon und Monophenylbutazon. Sie verabreichten dabei die Substanzen oral, intramuskulär, intravenös. als Salbe oder auch als Badezusatz.

Die Änderung der Applikationsform und der Versuchsobjekte änderte auch die Dosis des Pharmakons, die für eine signifikante Wirkung benötigt wurde. Für Monophenylbutazon lag die notwendige Mindestdosis bei intramuskulärer Verabreichung beim Menschen um 4 mg/kg Körpergewicht. Bei intraperitonealer Verabreichung bei den Rattenversuchen wurde eine Wirkung durch 100 mg/kg

erzielt, ohne daß hier die notwendige Mindestdosis ausgetestet wurde.

Zum Nachweis der örtlichen Resorption und der Ausbreitung auf dem Blutweg müssen die Applikationsstelle und das Testgebiet örtlich streng getrennt sein. Als bestes Testgebiet erwies sich für die intracutane Quaddelsetzung beim Menschen wie auch bei der Ratte, die Bauchhaut oberhalb und unterhalb des Nabels. Hier besitzt die Haut eine gleichmäßige Dicke und Spannung, annähernd gleiche Blutversorgung im gesamten Gebiet und keine zu starken Bindegewebssepten. Zugleich ist die Hautfläche hier genügend groß für die notwendige Anzahl der Quaddeln. Als Applikationsort zur Prüfung der percutanen Resorption wurden der Rücken und die oberen und unteren Extremitäten gewählt. Im Rattenversuch gingen M a t h i e s und Mitarbeiter (11 - 12) soweit, die Brust- und Bauchhaut durch einen Schnitt zu durchtrennen, um damit eine örtliche Diffusion zwischen Auftragungsort und Testgebiet zu verhindern.

Weiter ist nach M a t h i e s und B r u s i s für die percutane Resorption von Bedeutung, daß das Auftragungsgebiet eine große Fläche besitzt, damit ein möglichst hoher Prozentsatz der verabreichten Substanz gleichzeitig durch die Hautmembran diffundieren kann. Anderenfalls wird möglicherweise die Zeitdauer der Resorption verlängert, und der Wirkstoffspiegel im Blut

erreicht nicht die gewünschte Höhe.

Im Tierversuch wird als Farbstoff Evansblue angewandt, das sehr gute Farbstoffquaddelgrenzen bildet und dadurch gut abzulesen ist. Der Nachteil besteht darin, daß der Farbstoff für sehr lange Zeit an der Hautoberfläche sichtbar bleibt. Um diese dauernde Verfärbung bei Experimenten am Menschen auszuschalten, wird als Indikatorfarbstoff eine 0,1 %-ige Patentblau - VF - Lösung vorgezogen. Diese wird meist schon innerhalb weniger Tage aus dem Injektionsgebiet resorbiert.

Die Fragestellung dieser Arbeit ist, inwieweit durch Kapillarerweiterung die percutane Resorption von aufgesprühtem Monophenylbutazon gesteigert werden kann. Wir benützten in unseren Versuchen dazu Histamindihydrochlorid und Nikotinsäurebenzylester. Es soll in dieser Arbeit versucht werden, die Frage zu beantworten.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Die Versuche wurden an gesunden männlichen Probanden durchgeführt. Ihr Alter lag zwischen 20 und 30 Jahren, das Gewicht um 75 kg. Am Versuchstag und einen Tag zuvor durften sie keine Medikamente eingenommen haben. Während des Versuches waren Alkohol und Nicotin wegen ihrer Gefäßwirkung verboten.

Getestet wurde Monophenylbutazon, das in Sprühdosen zusammen mit Histamindihydrochlorid und Nicotinsäurebenzylester als kapillarerweiternde Substanzen vermischt war. Als Lösungsstoff kam Isopropanol zur Anwendung. Diese vier Substanzen machten allein schon die Hälfte der Spraymenge aus. Die andere Hälfte nahm das Treibgas ein. Zur Geruchsverbesserung diente eine geringe Menge von Ol. Rosmarini. Diese Mischung, die 60 g wog, lieferte die Firma Diedenhofen in hochdruckgesicherten Sprühdosen.

Folgende Mengenverhältnisse lagen in Prozent vor:

Monophenylbutazon	1,5 %
Histamindihydrochlorid	0,05 %
Nicotinsäurebenzylester	0,25 %
Isopropanol	47.95 %
Ol. Rosmarini	0,25 %
Treibgas	50,0 %

Bei einem Gewicht von 60 g bedeuten 1,5 % Monophenylbutazon 0,9 g , pro kg Körpergewicht sind das 12 mg. Histamindihydrochlorid hat bei 0,05 % nur ein Gewicht von 30 mg, also 0,4 mg/kg Körpergewicht. Nicotinsäurebenzylester hat einen Anteil von 0,15 g, gleich der Menge von Ol. Rosmarini. 30 g wiegt die Treibgasmenge. Das Restgewicht, 28,77 g , entfällt auf den Lösungsstoff.

Als Auftragungsort für die Sprühstoffe wählten wir den Rücken bis zu den Enden der Schulterblätter, den Nacken, Hals und die Brust bis in Höhe des Schwertfortsatzes. Zur Vergrößerung der Resorptionsfläche dienten zusätzlich die Oberarme bis zur Ellenbeuge. Beim Aufsprühen wurde die Bauchhaut abgedeckt, damit Monophenylbutazon nicht direkt auf das Quaddelgebiet einwirken konnte. Sofort nach der Applikation wurden die tröpfchenartigen Niederschläge an den Körperhaaren mit dem Spatel auf die Haut gestrichen. So blieb der Verlust relativ gering. Innerhalb von 3 - 5 Minuten war der Spray an der Haut eingetrocknet und die Versuchspersonen konnten sich auf die Ruhebetten legen, die sie für den Rest der Untersuchungszeit nicht mehr verlassen durften.

Zur objektiven Messung der Wirkung diente der

Spreadingtest in der Modifikation nach M a t h i e s . Eine intracutan gesetzte Farbstoff - Hyaluronidase - Quaddel wird durch hyaluronidasehemmende Stoffe in der weiteren flöchenhaften Ausbreitung gehindert. Die Differenz zwischen ungehemmter und gehemmter Ausbreitung wird planimetrisch gemessen und gibt so einen objektiven Anhaltspunkt für eine eingetretene Wirkung.

Wir benötigen also für den Test einen Farbstoff und Hyaluronidase. Der Fermentkomplex Hyaluronidase wird aus Tiertestes gewonnen, gereinigt und in Ampullenform in den Handel gebracht. Das von uns benützte Präparat heißt Kinetin (Hersteller : Schering AG, Berlin). Pro Quaddel wurden 7,5 IE angewandt.

Der Farbstoff markiert die Grenze und die Ausbreitung des intracutanen " Ödems ". In den Tierversuchsreihen wurde dazu Evansblue benützt, das beim Menschen sonst nur zu Tätowierungen verwendet wird. Es hat gegenüber der 0,1 %-igen Patentblau - VF - Lösung den Nachteil, daß der Farbstoff, einmal intracutan gespritzt, sehr lange sichtbar bleibt. Patentblau dagegen verschwindet nach einer Woche fast gänzlich aus der Haut. Für die Versuchszwecke war der Farbstoff in physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

Das Farbstoff - Depot wurde mit einer 1 ccm

Tuberkulinspritze gesetzt, an der man die 0,1 ml Flüssigkeitsmenge gut ablesen konnte. Auf die Spritze war eine 18-er Kanüle aufgesteckt, die eine genaue intracutane Injektion erlaubte. Eine nicht rein intracutane Quaddel hätte sich auch in die Tiefe ausgebreitet, was planimetrisch nicht meßbar gewesen wäre.

Da zur Testung eine Haut benötigt wird, mit einer relativ großen Fläche, einer gleichmäßigen Durchblutung und einem homogenen Unterbau, bot sich die Bauchhaut dafür an; hier wiederum das Gebiet oberhalb und unterhalb des Nabels, beiderseits der Mittellinie.

Vor Anwendung des Sprays setzten wir zwei Leerquaddeln: eine Farbstoffquaddel mit Hyaluronidase, die andere ohne Hyaluronidase. Diese Quaddeln dienten später als Ausgangspunkt für die Kurvendarstellung. Nach der Sprayapplikation wurden auch die Quaddeln paarweise injiziert. Die reine Farbstoffquaddel sollte einen Anhaltspumkt geben für eine etwaige hyaluronidaseunabhängige Wirkung. Dagegen zeigte die Farbstoff - Hyaluronidase - Quaddel den Einfluß des Pharmakon auf die Hyaluronidase an. Die zwei Quaddeln mußten möglichst in demselben Hautbereich gesetzt werden. Die Injektionen erfolgten in einem Abstand von 30 Minuten bei einer Gesamtdauer des Versuches von 240 Minuten. Das ergibt mit den Leerquaddeln 9 Quaddelpaare, die nach dem

Muster des lateinischen Quadrates auf der Bauchhaut angelegt wurden, um Eigeneffekte und damit Verfälschungen des Gesamtergebnisses zu vermeiden.

Der Farbstoff und die Hyaluronidase konnten 10 Minuten lang auf die Haut einwirken, dann erst wurden die Quaddeln gemessen. Ein durchsichtiger Zellophanstreifen wurde auf die verfärbte Stelle gelegt und die Umrisse mit einer Nadel eigekratzt. Später wurden die erhaltenen Umrisse planimetrisch ausgemessen und die Fläche in mm^2 angegeben. Die Werte wurden nun auf einem Millimeterpapier aufgetragen und zu einer Kurve ausgezogen. Als " Nullinie " diente jeweils der Wert der Leerquaddeln. Die Kurve gibt dann die Abweichungen von dieser Linie wieder, bezogen auf mm^2.

Nach dieser Methodik wurden 2 Versuchsreihen durchgeführt:

Versuchsreihe I

Es wurde die vollständige Spraymischung (Monophenylbutazon, Nicotinsäurebenzylester, Histamindihydrochlorid, Isopropanol) auf die Haut von 9 männlichen Probanden aufgetragen und getestet.

Versuchsreihe II

Hier wurden die kapillarerweiternden Substanzen ohne Monophenylbutazon auf ihre spreadinghemmende Wirkung

untersucht. Der Spray enthielt dieselbe Mischung, nur wurde das fehlende Volumen des Monophenylbutazon von Isopropanol ausgefüllt. Isopropanol besaß jetzt einen Anteil von 49,45 % . Der Versuch wurde an 6 männlichen Probanden vorgenommen.

E r g e b n i s s e

Versuchsreihe I

Vor der Sprayanwendung wurden Leerquaddeln gesetzt. Die Flächenwerte dieser Quaddeln (L) hielten sich bei der reinen Farbstoffinjektion (F) zwischen 33 und 58 mm^2, bei der Farbstoff - Hyaluronidaseinjektion (FHy) zwischen 37 und 68 mm^2.

Diese Leerwerte stellen die Bezugspunkte für die späteren Versuchswerte dar, die wir nach der Sprayapplikation erhalten haben. Von den Bezugswerten ausgehend gab a die Differenz zu den weiteren Versuchswerten von F , b die Differenz zu den weiteren Versuchswerten von FHy an.

Errechnet man das arithmetische Mittel aus den Einzelwerten der 9 verschiedenen Probanden, so bekommen wir für die Leerfarbstoffquaddel den Wert von 41 mm^2, für die Hyaluronidasequaddel den Wert von 51 mm^2. Berechnen wir auch die Mittelwerte aus den Einzelergebnissen nach der Sprayapplikation und setzen sie in Beziehung zu den mittleren Leerwerten, so erhalten wir die mittleren Abweichungen. Sie liegen

bei F zwischen - 1 und - 6,

bei FHy zwischen + 1 und - 10.

Die Abweichungen bei Betrachtung aller Einzelwerte sind natürlich größer. Sie schwanken

bei F zwischen + 6 und - 22,

bei FHy zwischen + 20 und - 22.

Betrachten wir aber den Verlauf der Einzelkurven, so stellen wir fest, daß die Schwankungen der FHy - Quaddel parallel gehen zu denen der F - Quaddel. Dieses Verhalten deutet auf eine im Einzelfall vorliegende, wenn auch in den Mittelwerten nicht beweisbare, Reaktion auch hinsichtlich einer hyaluronidaseunabhängigen permeabilitätshemmenden Wirkung hin. Es halten sich die Abweichungen der Mittelwerte innerhalb der Fehlerbreite, die durch die Methode bedingt ist. Es liegt also keine beweisbare Hemmwirkung des Monophenylbutazon auf das Hyaluronidase - Spreading vor.

Zeichenerklärung zu den Tabellen :

Die Zahlenwerte geben die Quaddelflächen in mm^2 an.

Zeit = Zeit in Minuten nach Auftragen des Spray

F = Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidase

FHy = Farbstoffquaddel mit Hyaluronidase

L = Leerversuch vor Auftragen des Spray

Leerquaddeln)

a = Differenz zwischen F und L_F in mm^2

b = Differenz zwischen FHy und L_{FHy} in mm^2

Tabelle I

(Versuchsreihe I)

Zeit		L	30	60	90	120	150	180	210	240
Vers.-person										
	F	35	34	27	26	28	29	36	31	28
	a		- 1	- 8	- 9	- 7	- 6	+ 1	- 4	- 7
So.	FHy	37	42	30	32	34	49	49	32	29
	b		+ 5	- 7	- 5	- 3	+12	+12	- 5	- 8
	F	33	38	33	31	29	33	37	35	34
	a		+ 5	± 0	- 2	- 4	± 0	+ 4	+ 2	+ 1
Za.	FHy	49	53	47	44	53	46	49	59	45
	b		+ 4	- 2	- 5	+ 4	- 3	± 0	+10	- 4
	F	34	34	35	38	35	36	29	32	36
	a		± 0	+ 1	+ 4	+ 1	+ 2	- 5	- 2	+ 2
Be.	FHy	44	32	40	46	45	47	40	44	44
	b		-12	- 4	+ 2	+ 1	+ 3	- 4	± 0	± 0
	F	45	44	45	34	45	47	33	42	47
	a		- 1	± 0	-11	± 0	+ 2	-12	- 3	+ 2
Zi.	FHy	57	44	51	47	47	63	47	49	50
	b		-13	- 6	-10	-10	+ 6	-10	- 8	- 7
	F	58	60	42	50	49	50	54	55	48
	a		+ 2	-16	- 8	- 9	- 8	- 4	- 3	-10
Wi.	FHy	68	70	54	54	69	68	88	85	83
	b		+ 2	-14	-14	+ 1	± 0	+20	+17	+15
	F	50	48	50	38	41	45	45	50	45
	a		- 2	± 0	-12	- 9	- 5	- 5	± 0	- 5
Os.	FHy	56	59	55	41	55	53	54	60	55
	b		+ 3	- 1	-15	- 1	- 3	- 2	+ 4	- 1
	F	53	33	36	35	34	31	37	38	31
	a		-20	-17	-18	-19	-22	-16	-15	-22
Ro.	FHy	61	47	47	39	41	51	55	60	55
	b		-14	-14	-22	-20	-10	- 6	- 1	- 6
	F	34	30	24	32	29	36	33	30	38
	a		- 4	-10	- 2	- 5	+ 2	- 1	- 4	+ 4
Ko.	FHy	48	44	47	36	29	43	42	50	45
	b		- 4	- 1	-12	-19	- 5	- 6	+ 2	- 3
	F	33	39	26	30	33	31	37	38	30
	a		+ 6	- 7	- 3	± 0	- 2	+ 4	+ 5	- 3
Va.	FHy	40	33	38	31	40	37	42	42	48
	b		- 7	- 2	- 9	± 0	- 3	+ 2	+ 2	+ 8

Tabelle II

(Versuchsreihe I)

Mittelwerte

Zeit	L	30	60	90	120	150	180	210	240
F	41	40	35	35	36	38	38	39	38
a		- 1	- 6	- 6	- 5	- 3	- 3	- 2	- 3
FHy	51	47	46	41	46	51	52	52	50
b		- 4	- 5	-10	- 5	+ 0	+ 1	+ 1	- 1

Versuchsreihe II

Die Flächenwerte der einzelnen Quaddeln beim Leerversuch (L) erreichten bei F Grenzwerte von 30 bis 53 mm^2, bei FHy Grenzwerte von 36 bis 105 mm^2. Das arithmetische Mittel der Einzelwerte der 6 Probanden ergab 36 mm^2 für die Leerfarbstoffquaddel (L_F) und 55 mm^2 für die Probehyaluronidasequaddel (L_{FHy}).

Die Mittelwerte der Versuchsquaddeln wichen nur wenig von L_F und L_{FHy} ab. Der Wert lag

bei F zwischen + 4 und - 3,

bei FHy zwischen + 1 und - 5.

Die Werte lagen also innerhalb der vertretbaren Fehlerbreite.

Die FHy - Quaddeln einer allergischen Versuchsperson erreichten Extremwerte bis zu 105 mm^2, dabei

waren auch maximale Unterschiede von + 16 bis - 30 zu verzeichnen. Dennoch stimmte das Ergebnis mit dem der anderen Probanden überein, da die Mittelwertsdifferenzen der FHy - Werte und der F - Werte in der gleichen Größenordnung wie bei den übrigen Versuchspersonen lagen:

bei F zwischen +12 und -11,

bei FHy zwischen +16 und -18.

Auf Grund der Mittelwertskurve kann weder eine spreadinghemmende noch eine spreadingfördernde Wirkung der kapillarerweiternden Substanzen nachgewiesen werden.

Tabelle III

(Versuchsreihe II)

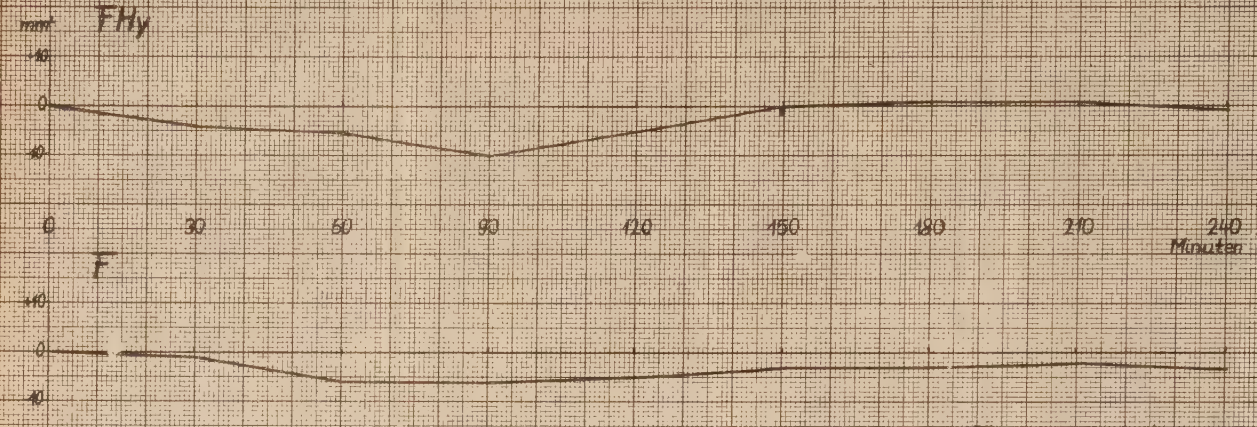
Zeit		L	30	60	90	120	150	180	210	240
Vers.-person										
Kd.	F	35	38	44	41	40	33	40	25	38
	a		+ 3	+ 9	+ 6	+ 5	- 2	+ 5	-10	+ 3
	FHy	55	48	53	49	45	39	43	39	44
	b		- 7	- 2	- 6	-10	-16	-12	-16	-11
Kr.	F	32	41	38	36	36	37	40	38	44
	a		+ 9	+ 6	+ 4	+ 4	+ 5	+ 8	+ 6	+12
	FHy	42	58	47	41	50	49	53	55	52
	b		+16	+ 5	- 1	+ 8	+ 7	+11	+13	+10
Wi.	F	45	48	42	46	52	51	53	37	39
	a		+ 3	- 3	+ 1	+ 7	+ 6	+ 8	- 8	- 6
	FHy	71	57	62	72	69	69	65	62	53
	b		-14	- 9	+ 1	- 2	- 2	- 6	- 9	-18
Hu.	F	36	36	32	39	39	31	25	33	31
	a		± 0	- 4	+ 3	+ 3	- 5	-11	- 3	- 5
	FHy	51	49	41	47	49	63	39	61	63
	b		- 2	-10	- 4	- 2	+12	-12	+10	+12
Sh.	F	53	41	53	35	43	33	37	37	37
	a		-12	± 0	-18	-10	-20	-16	-16	-16
	FHy	105	93	121	93	117	107	75	106	91
	b		-12	+16	-12	+12	+ 2	-30	+ 1	-14
Bo.	F	30	31	31	33	36	30	30	28	29
	a		+ 1	+ 1	+ 3	+ 6	± 0	± 0	- 2	- 1
	FHy	36	50	49	39	46	46	34	42	36
	b		+14	+13	+ 3	+10	+10	- 2	+ 8	± 0

Tabelle IV

(Versuchsreihe II)

Mittelwerte

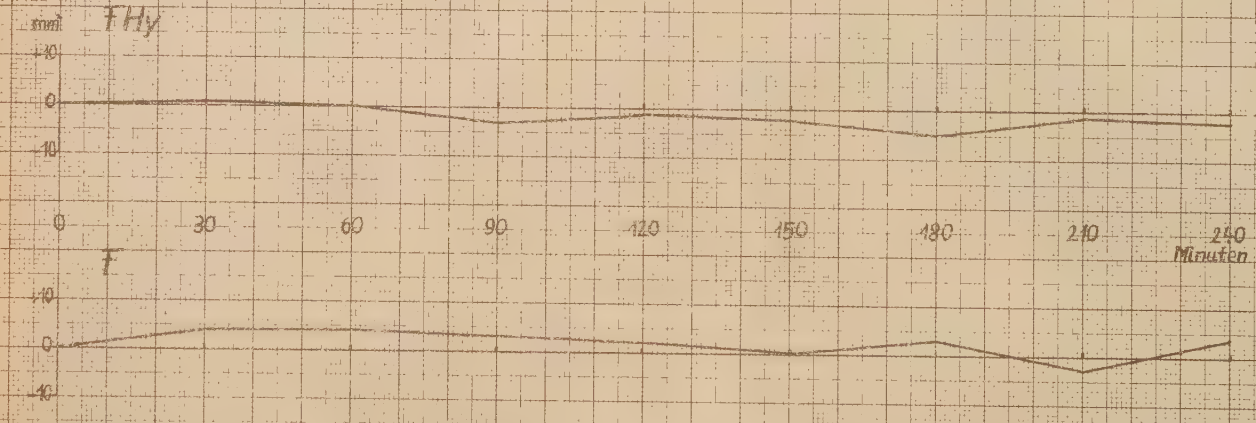
Zeit	L	30	60	90	120	150	180	210	240
F	36	40	40	39	38	36	39	33	40
a		+ 4	+ 4	+ 3	+ 2	+ 0	+ 3	- 3	+ 4
FHy	55	56	55	52	54	53	50	54	53
b		+ 1	+ 0	- 3	- 1	- 2	- 5	- 1	- 2



F : L = 41 mm²

FHy L = 51 mm²

Abb. 1 Versuchsreihe I Durchschnitt von 9 Fällen



F : L = 36 mm²

F Hy: L = 55 mm²

Abb. 2 Versuchsreihe II Durchschnitt von 6 Fällen

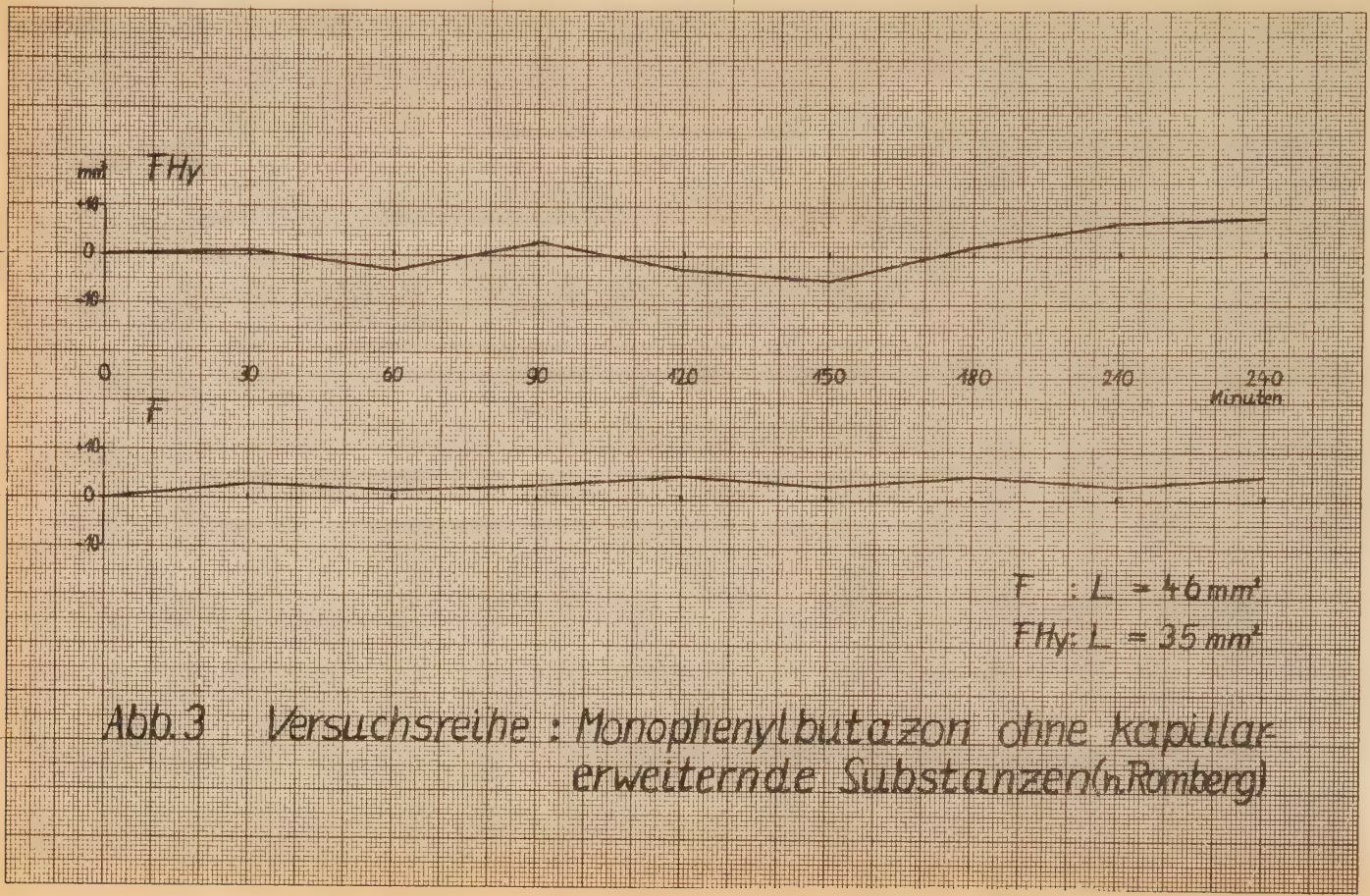


Abb. 3 Versuchsreihe : Monophenylbutazon ohne kapillar-erweiternde Substanzen(n.Romberg)

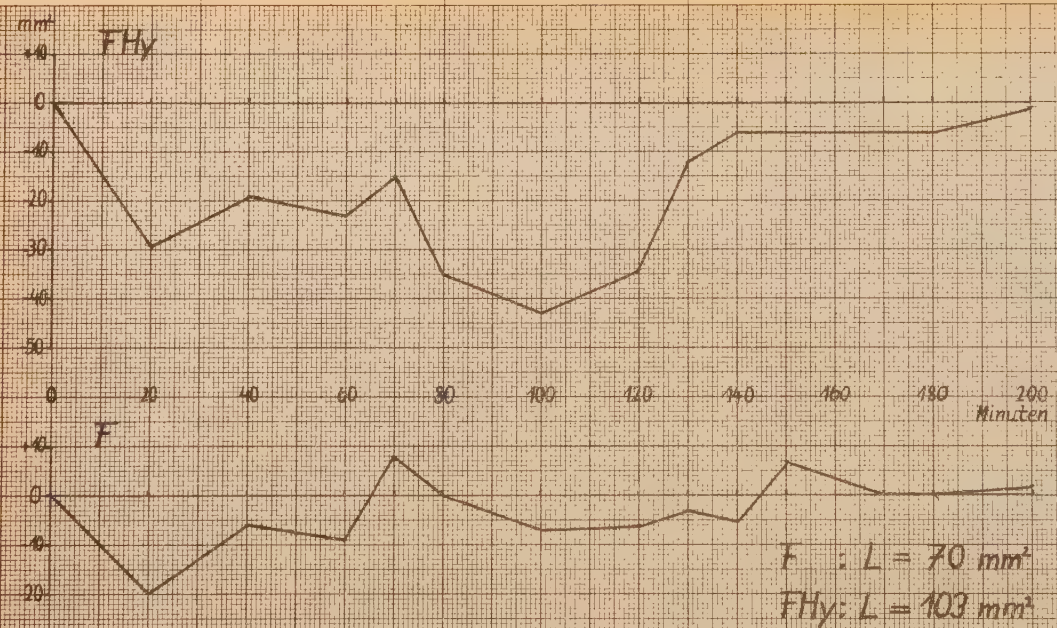


Abb. 4 Monophenylbutazon i.m. am Menschen mit Hemmung des Spreadungeffektes (n. Mathies)

D i s k u s s i o n

Aus den Versuchsergebnissen von R o m b e r g (17) ergab sich, daß Monophenylbutazon in Sprayform keine signifikante Hemmwirkung auf die Ausbreitung der Farbstoff - Hyaluronidase - Quaddel entfaltet. Auch der Zusatz von kapillarerweiternden Pharmaka erhöhte die percutane Resorbierbarkeit des aufgesprühten Monophenylbutazon nicht so, daß bei gleichbleibender Dosis jetzt eine Hyaluronidasehemmung nachweisbar gewesen wäre.

R o m b e r g benützte in seinen zwei verschiedenen Versuchsreihen Monophenylbutazon in einer Dosis von 0,9 g und 1,8 g. Das entspricht bei durchschnittlich 75 kg schweren Probanden einer Dosis von 12 mg beziehungsweise 24 mg/kg Körpergewicht. Wir verwendeten bei den Untersuchungen nur die einfache Dosis, 12 mg pro kg Körpergewicht, zusammen mit durchblutungsfördernden Mitteln, Nicotinsäurebenzylester und Histamindihydrochlorid.

Da beide Male nicht einmal ein Hinweis auf eine positive Wirkung zu bekommen war, lag die Frage nahe : War die verabreichte Menge überhaupt ausreichend oder spielten andere Faktoren eine Rolle?

Bei intramuskulärer Applikation am Menschen ge-

nügte die Dosis von 4 mg/kg Körpergewicht um einen statistisch gesicherten Effekt zu erzielen. Beim Spray wurde also die 3 - 6-fache Menge verwendet. Weil aber eine intramuskuläre Applikation schlecht mit einer percutanen zu vergleichen ist, müssen wir von einer Salbenversuchsreihe ausgehen. Als Vergleich dienen Butazolidin - Salbenversuche, die B r u s i s (2) am Menschen durchführte. Er gebrauchte Dosen von 20 - 80 mg/kg Körpergewicht. Wichtig ist bei diesen Versuchen, daß auch die niedrigste Dosis von 20 mg/kg Körpergewicht noch einen eindeutigen Effekt erbrachte. Es war also noch nicht die Grenzdosis erreicht worden.

Weiter müssen wir Resultate aus einer Vergleichsarbeit Diphenylbutazon - Monophenylbutazon heranziehen, um eine Verbindung zu Monophenylbutazon herstellen zu können. M a t h i e s und S c h o l z e (13) demonstrierten an der Ratte, daß das Ausmaß des Effektes von Diphenylbutazon in der gleichen Größenordnung liegt, wie das des Monophenylbutazon. Von beiden Substanzen wurde jeweils dieselbe Dosis intraperitoneal angewendet, nämlich 100 mg/kg Gewicht.

Daraus kann man schließen, daß beide Mittel eine annähernd ähnliche Wirkungsintensität besitzen. Weiter läßt sich folgern, daß die Dosis für eine oberflächliche Hautapplikation in den Spray - Versuchsreihen nichtzu niedrig gewählt worden war.

Nachdem die hyaluronidasehemmende Wirkung des Monophenylbutazon durch M a t h i e s und Mitarbeiter (12) bei intramuskulärer Applikation gesichert war, schien bei Hautapplikation die Kapillarerweiterung das einfachste Mittel zu sein um die Resorption zu steigern. Dem Spray wurde Nicotinsäurebenzylester zugesetzt, das schon lange bei Rheuma - Einreibemitteln verwendet wird. Als zweite Komponente wurde noch Histamindihydrochlorid dazugegeben. Diese Substanz erweitert nicht nur die Gefäße, sondern erhöht auch die Permeabilität der Kapillaren. Nun hat aber nach R e c h e n b e r g (16) Histamin eine spreading - hemmende Wirkung ähnlich dem Diphenylbutazon, das heißt, es besteht ein Synergismus zwischen Histamin und Diphenylbutazon. Andererseits konnten J a q u e s und D o m e n j o z (6) am isolierten Meerschweinchendarm einen histaminbedingten Krampf durch Diphenylbutazon lösen. Ebenso hat C a p a l d o (3) am Kaninchen eine Antihistaminwirkung des Diphenylbutazon nachgewiesen. Nach Gabe von Butazolidin erhöhte sich die Serumhistaminase. Daraus folgt, daß Histamin und Diphenylbutazon gleichzeitig auch Antagonisten sind. Wegen der nahen pharmakologischen Verwandschaft von Diphenylbutazon und Monophenylbutazon kann man diese Beobachtung wohl auf

beide Substanzen übertragen.

In einem Leerversuch in dem alle Spraybestandteile außer Monophenylbutazon verwendet wurden, führten Histamindihydrochlorid und Nicotinsäurebenzylester zu keiner Veränderung in der Ausbreitung der Hyaluronidase-quaddel. Es kann natürlich sein, daß die verwendete Dosis für eine Beeinflußung zu gering war: der Spray enthielt 0,05 % Histamindihydrochlorid, das sind bei 60 g Gesamtgewicht 30 mg. Jedenfalls können wir an Hand der Ergebnisse aus der Versuchsreihe II und R o m b e r g s (17) Erfahrungen mit reinem Monophenyl-butazon eine Beeinflußung ausschließen.

Wahrscheinlicher ist, daß folgende Faktoren bei den Testen mit hereingespielt haben:

Im Gegensatz zur Salbe ist es beim Spray unmöglich, die ganze Menge ohne Verlust auf die Haut zu bringen. Ein Teil geht durch Vorbeisprühen verloren, weil der Strahl nicht genügend gebündelt aus der Düse kommt; ein Teil kommt wegen der Luftströmungsverhältnisse beim Sprühen nicht mit der Haut in Berührung. Von der auf die Haut gesprayten Menge bleibt wiederum ein gewisser Prozentsatz an den Körperhaaren hängen, trocknet dort ein und bleibt damit wirkungslos. Wir versuchten, wie R o m b e r g (17) diese Fehlerquelle auszuschalten, indem wir mit dem Spatel diese Spray-

reste von den Haaren auf die Haut strichen. Dennoch kann man auch auf diese Weise den Verlust von wirksamer Substanz nicht ganz umgehen. Es wird also schon beim Aufsprühen auf die Haut die Spraymenge verringert.

Hinzu kommt als Nachteil des Monophenylbutazon in Sprühform, daß es in Isopropanol gelöst war. Isopropanol siedet bei 82,4 ^{o} C und hat die - in dieser Versuchsreihe unerwünschte - Eigenschaft, bei Körpertemperatur schnell zu verdampfen. Monophenylbutazon bleibt dann ungelöst als Trockensubstanz auf der Haut liegen und kann nicht resorbiert werden.

Wie oben erwähnt, lassen sich nur mit starken Basen stabile wässrige Lösungen von Monophenylbutazon herstellen. Nach B e y e r (1) jedoch sind die Alkohole " als äußerst schwache Säuren aufzufassen ". Der natürliche Säuremantel der Haut verstärkt dann noch diese Alkoholeigenschaft. Dadurch wird die ohnehin geringe Löslichkeit von Monophenylbutazon zusätzlich verschlechtert. Es ist anzunehmen, daß dadurch eine genügende Resorption der wirksamen Substanz verhindert wird. Auch die kapillarerweiternden Stoffe können den Nachteil der Applikationsart und des Lösungsmittels bei diesem chemisch - physikalischen Problem nicht aufheben.

Wenn dagegen die Diphenylbutazonsalbe eine gute percutane Resorbierbarkeit zeigt, so dürfte das seine Ursache darin haben, daß beim Auftragen keine Substanz verlorengeht und der ganze Wirkstoff durch die Wasser - Öl - Emulsion für längere Zeit mit der Hautoberfläche in Verbindung steht - und nicht Teile ungenützt an den Körperhaaren hängenbleiben oder an der Oberfläche eintrocknen und damit nicht zur Diffusion kommen.

Ausschlaggebend ist, daß die Wirksubstanz als Natrium - Glycerin - Salz zum größten Teil in der Ölphase der Emulsion suspendiert und zum kleineren Teil in der Wasserphase gelöst war.

Der pH - Wert scheint bei Salbenapplikation in den Hintergrund zu treten, weil B r u s i s (2) bei einem pH von 5,5 mit Butazolidin denselben Erfolg hatte wie bei einem pH von 8,6.

Um demnach mit Monophenylbutazonspray eine Wirkung zu erzielen, dürfte die Substanz nicht schnell eintrocknen und müßte das Lösungsmittel aus einer Wasser - Öl - Emulsion bestehen. Demnach müßte eine Salbe in Form eines Schaumsprays hergestellt werden.

Z u s a m m e n f a s s u n g

In der vorliegenden Arbeit wird die Möglichkeit der percutanen Resorption von Monophenylbutazon als Spray untersucht, dem durchblutungsfördernde Substanzen zugesetzt wurden. Im Spray sind außer dem in Isopropanol gelösten Monophenylbutazon noch Histamindihydrochlorid und Nicotinsäurebenzylester zur Kapillarerweiterung enthalten. Durch ein Treibgas wird diese Mischung aus hochdruckgesicherten Sprühdosen auf der menschlichen Haut verteilt.

Zur Feststellung der eingetretenen Resorption diente der Hyaluronidase - Farbstoff - Quaddel - Test. Hyaluronidasehemmende Substanzen vermindern bei genügendem Wirkungsspiegel im Blut die Ausbreitung der Farbstoffhyaluronidasequaddeln. In zwei Versuchsreihen wurde das eine Mal das hyaluronidasehemmende Monophenylbutazon kombiniert mit kapillarerweiternden Mitteln, das andere Mal die kapillarerweiternden Substanzen allein getestet. Die Versuchsmethodik wurde ausführlich beschrieben; die Ergebnisse sind genau aufgezeichnet, in Tabellen zusammengefaßt und graphisch dargestellt worden.

Die Kurven zeigen deutlich das negative Ergebnis in beiden Versuchsreihen. Als Gründe für das Versagen des Monophenylbutazonsprays kommen in Frage: die

Applikationsart, das Lösungsmittel und die Löslichkeit von Monophenylbutazon. Eine Weitstellung der Kapillaren änderte nichts an den Ergebnissen.

Literaturverzeichnis

1. Beyer, H.: Lehrbuch der organischen Chemie
Hirzel Verlag, Leipzig 1963, S.83

2. Brusis, E.: Dissertation München 1964

3. Capaldo, F.: Atti Accad. Pugliesi Sci.
1953, 11

4. Domenjoz, R.: Arch. f. Exper. Pathologie
u. Pharmakologie 1955, Bd.1/2, 225

5. Eppinger, H.: Die seröse Entzündung
Springer Verlag, Berlin 1935

6. Jaques, Domenjoz, R.:
Naunyn-Schmiedbergs Arch. f. Exper.
Pathologie u. Pharmakologie
1950, 124, 212

7. Karlson, P.: Lehrbuch der Biochemie
Thieme Verlag, Stuttgart 1962,269

8. Lotmar, R.: Z. Rheumaforschung, 19 1/2, 1 - 10

9. Mathies, H., Biechele, Hartmann:
Ärztl. Forschg. 1960, 14, I 160

10. Mathies, H., Jankowski: Klin.Wschr.
1957, 35, 892

11. M a t h i e s, H.: Arzneimittelforschung 1963, 13, 805 - 809

12. M a t h i e s, H., E.W i l l, V.S c h u e l e: Med. Monatsschrift 1962,Jg.16, 8

13. M a t h i e s, H., S c h o l z e: Arzneimittelforschung 1962, 12, 79

14. M a t h i e s, H., V o g e l: Zschr. ges. exper. Med. 1960, 32, 133

15. M a t h i e s, H., u.a.: Arzneimittelforschung 1964, 14, 286 - 288

16. R e c h e n b e r g, K.H.: Phenylbutazon unter besonderer Berücksichtigung der Nebenwirkungen. Thieme Verlag, Stuttgart 1963, 48

17. R o m b e r g, K.: Dissertation München 1965

18. S c a r s e l l i, V.: Il Farmaco 1959, 14, 347

19. S t e n z l, H. u.a.: Helv. chir. Acta 1950, 33, 1183

An dieser Stelle möchte ich Herrn Priv.Doz. Dr. H. Mathies für die Überlassung des Themas danken. Mein besonderer Dank gilt ihm für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine stets freundliche Hilfe bei allen Schwierigkeiten.

L e b e n s l a u f

Am 23.April 1941 wurde ich, Friedrich Victor Struppler, als Sohn des Internisten Dr. med. Theodor Struppler und seiner Ehefrau Irma, geb. von Bargen, in München geboren. Bis 1952 wohnte die Familie auf dem Land, erst in Feldafing, dann in Maising. In Pöcking besuchte ich die Volksschule, in Starnberg 1 Jahr lang die Oberrealschule. Mit dem Umzug nach München wechselte ich auf das Gymnasium über. Anfangs ging ich auf das Ludwigsgymnasium, die letzten 3 Jahre auf das Wilhelmsgymnasium. Dort legte ich 1960 das Abitur ab. Nach dem 2-monatigen Krankenpflegedienst verbrachte ich 15 Monate als Sanitäter bei den Gebirgsjägern.

Ab Januar 1962 studierte ich in München Medizin. Im Frühjahr 1964 bestand ich das Physikum, am 21.6.1967 das medizinische Staatsexamen.

Seit September 1967 arbeite ich als Medizinalassistent an der Düsseldorfer Universitätsklinik.